สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา

Gibberella fujikuroi C

นางสาว วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2532

ISBN 974-569-992-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I18282581

The Optimal Conditions for the Production of Gibberellins by *Gibberella fujikuroi* C

Miss Wanrudee Nimcharoenwongsa

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Programme of Biotechnology
Graduate School
Chulalongkorn University
1989

ISBN 974-569-992-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* C
โดย	นางสาว วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์
ภาควิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล
	รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

_____คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

_____ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนียวัน)

_____กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล)

_____กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

_____กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ : สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา จิบเบอเรลลา ฟูจิคูรอย ซี (The Optimal Conditions for the Production of Gibberellins by Gibberella fujikuroi C) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.นลิน นิลอุบล และรศ.ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ, 122 หน้า

ในการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาแหล่งอาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในระดับขวดเขย่า

อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในระดับขวดเขย่า คืออาหารเหลวที่ใน 1 ลิตรประกอบด้วยกลูโคส 70 กรัมร่วมกับแป้งมันสำปะหลัง 30 กรัม เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมซัลเฟต ร่วมกับกากถั่วเหลืองสกัดไขมันแล้วโดยให้มีปริมาณไนโตรเจน 0.40 และ 0.14 กรัมตามลำดับ เป็นแหล่งอนินทรีย์และอินทรีย์ไนโตรเจน โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 5 กรัม และแมกนีเซียมซัลเฟต 1 กรัมเป็นแหล่งแร่ธาตุ การเติมแร่ธาตุเสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้เชื้อราผลิตจิบเบอเรลลินเพิ่มขึ้น จากการวิจัยพบว่าแร่ธาตุเสริมที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_4 และ GA_7 คืออลูมิเนียมออกไซด์ 0.10 กรัมต่อลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนแร่ธาตุเสริมที่เหมาะสมกับการผลิต GA_3 ประกอบด้วยอลูมิเนียมออกไซด์และซิงค์คลอไรด์ ปริมาณอย่างละ 0.5 กรัมร่วมกับคอปเปอร์ซัลเฟต 0.01 กรัมต่อลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อคือการเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบโรตารี่ที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 7.0 การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิในการหมัก 25 °ซ เหมาะสมสำหรับการสร้าง GA_3 ส่วน GA_4 และ GA_7 นั้นจะสร้างได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 °ซ

เมื่อนำเชื้อรา Gibberella fujikuroi C มาเพาะเลี้ยงในอาหารและสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวข้างต้นจะทำให้เชื้อราผลิตจิบเบอเรลลินชนิด GA_3 GA_4 และ GA_7 เพิ่มขึ้นจากก่อนการปรับสภาวะเป็น 4.2 6.2 และ 3.2 เท่าตามลำดับ จากการทดสอบกิจกรรมทางชีวภาพ (biological activity) ของสารที่ผลิตได้โดยเปรียบเทียบการเจริญของต้นข้าวแคระ พบว่าต้นข้าวที่ปลูกในอาหารที่เติมจิบเบอเรลลินที่ผลิตได้จะมีการยืดตัวสูงกว่าต้นข้าวปรกติอย่างชัดเจน

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2531 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

Wanrudee Nimcharoenwongsa : The Optimal Conditions for the Production of Gibberellins by Gibberella fujikuroi C. Thesis Advisor : Asso.Prof.Naline Nilubol,Ph.D. and Asso.Prof.Pairoh Pinphanichakarn,Ph.D.,122 pp.

The aims of this work are to study the suitable medium compositions and the optimal conditions for the production of gibberellins by Gibberella fujikuroi C in a shaken flask.

The suitable medium composition for the production of GA_4 and GA_7 contained per litre,70 gm glucose and 30 gm tapioca starch as carbon sources , ammonium sulfate and defatted soybean meal at the nitrogen content of 0.40 and 0.14 gm ,respectively,as inorganic and organic nitrogen sources, 5 gm. potassium dihydrogen phosphate ,1 gm magnesium sulfate ,and 0.10 gm aluminium oxide as trace element and it was adjusted to pH 7.0 before autoclaving. Whilst the optimal medium compositions for the production of GA_3 were similar to those for GA_4 and GA_7 with the supplement of 0.50 gm aluminium oxide, 0.50 gm zinc chloride and 0.01 gm copper sulfate as trace element.

The optimal cultivation conditions were at 300 rpm rotary shaking speed and at 30 °C for the production of GA_4 and GA_7 whereas the optimal temperature for GA_3 production was at 25 °C.

Under such conditions,yields of GA_3 , GA_4 and GA_7 in the extract of culture broth were increased by 4.2 , 6.2 and 3.2 times,respectively,from those before the optimization as analyzed by HPLC. Furthermore,the extract also showed significant effect on elongation of dwarf rice plants.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต วันรุดี นิ่มเจริญวงศ์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2531 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ดร.นลิน นิลอุบล และรองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่ได้กรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ แนวความคิด กำลังใจ และความเข้าใจอันมีค่ายิ่งตลอดระยะเวลาในการศึกษาและทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ ที่ได้กรุณารับเป็นกรรมการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ Prof.Dr.Y.Yamada และคุณดารารัตน์ รอดพยาธิ์ แห่งมหาวิทยาลัยโอซากา คุณพิเชษฐ อิฐกอ แห่งมหาวิทยาลัยนาโกยา ประเทศญี่ปุ่น ที่อำนวยความสะดวกในการจัดหาอุปกรณ์และสารเคมีบางชนิดสำหรับการวิจัย

ขอขอบพระคุณสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และสารเคมี จนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สถาบันฯ ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกระหว่างการทำวิจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณวาสนา แสงพิทักษ์

ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้บริการวิเคราะห์ทางเคมี โดยคิดค่าบริการในอัตราพิเศษ

ขอขอบพระคุณท่านคณาจารย์หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และขอขอบคุณพี่ เพื่อน และน้องทุกคนที่ได้มีส่วนช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดการศึกษาและทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยและโครงการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนา คณะกรรมการพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (STDB) ที่อนุเคราะห์ด้านทุนการศึกษาและวิจัย

ท้ายสุดนี้ ข้าพเจ้าขอกราบรำลึกถึงพระคุณ บิดา มารดา พี่น้อง และผู้อยู่เบื้องหลังทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ ความเข้าใจ กำลังกาย กำลังใจและกำลังทรัพย์ ในการทำวิทยานิพนธ์นี้ตั้งแต่เริ่มต้นจนเสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย _____ ฆ

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ _____ ง

กิตติกรรมประกาศ _____ จ

สารบัญ _____ ฉ

สารบัญรูป _____ ฎ

สารบัญตาราง _____ ฏ

คำย่อ _____ ฒ

บทที่

1 บทนำ _____ 1

2 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

2.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย _____ 14

2.1.2 สารเคมี _____ 15

2.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง _____ 15

2.3 วิธีการเก็บและเลี้ยงเชื้อราที่ใช้ในการวิจัย

2.3.1 การเก็บรักษาเชื้อ Gibberella fujikuroi __ 15

2.3.2 การเลี้ยงเชื้อราให้สร้างสปอร์และการเตรียมสปอร์แขวนลอย _____ 16

2.3.3 การเลี้ยงเชื้อเพื่อเตรียมหัวเชื้อในขวดแก้วทรงกรวย _____ 16

2.3.4 การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตจิบเบอเรลลินในขวดแก้วทรงกรวย _____ 16

2.4 วิธีการวิเคราะห์

2.4.1 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณจิบเบอเรลลิน (GA_3 GA_4 และ GA_7)

บทที่ หน้า

2.4.1.1 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณจิบเบอเรลลินโดยวิธีทางชีววิทยา (bioassay) 16

2.4.1.2 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณจิบเบอเรลลินโดยวิธีทางเคมี (chemical assay)

2.4.1.2.1 โดยวิธีทางทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin Layer Chromatography,TLC) 20

2.4.1.2.2 โดยวิธีไฮเพอฟอรมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (High Performance Liquid Chromatography)

2.4.1.2.2.1 การหาวิธีการสกัดจิบเบอเรลลินที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วย HPLC 21

2.4.1.2.2.2 การหาชนิดของสารมาตรฐานเปรียบเทียบ (internal standard) ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วย HPLC 21

2.4.2 การตรวจวัดการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi 22

2.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) 22

2.4.4 การวัดค่าความเป็นกรดด่าง 22

3 ผลการวิจัย

3.1 เปรียบเทียบวิธีตรวจสอบชนิดและปริมาณจิบเบอเรลลิน

3.1.1 วิธีทางชีวภาพ (bioassay) 23

3.1.2 วิธีทางเคมี (chemical assay)

3.1.2.1 โดยการทำโครมาโตกราฟีบนแผ่นทินเลเยอร์ (TLC)

บทที่ หน้า

3.1.2.1.1 ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบด้วย TLC _____ 26

3.1.2.1.2 การอ่านค่าความเข้มของจุดสารบนแผ่นซิลิกาด้วย High Speed TLC-Scanner _____ 29

3.1.2.2 โดยวิธีไฮเพอฟอรมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (HPLC)

3.1.2.2.1 วิธีการสกัดที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบด้วย HPLC _____ 31

3.1.2.2.2 ชนิดของสารมาตรฐานเปรียบเทียบภายใน (internal standard) ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบด้วย HPLC _____ 33

3.2 เปรียบเทียบเชื้อรา Gibberella fujikuroi เพื่อหาสายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน

3.2.1 สูตรอาหารแข็งสำหรับการสร้างสปอร์ _____ 43

3.2.2 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา G.fujikuroi 6 สายพันธุ์ ในอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อ 2 สูตร _____ 45

3.2.3 เปรียบเทียบการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G.fujikuroi 6 สายพันธุ์ในอาหารเหลว 7 สูตร _____ 47

3.2.4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตจิบเบอเรลลินของเชื้อรา G.fujikuroi 6 สายพันธุ์ __ 49

3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G.fujikuroi C ในขวดแก้วทรงกรวย

3.3.1 องค์ประกอบของอาหาร

3.3.1.1 ชนิดและปริมาณแหล่งคาร์บอน

บทที่ หน้า

3.3.1.1.1 ปริมาณของแหล่งคาร์บอน ____ 52
3.3.1.1.2 ชนิดของแหล่งคาร์บอน ____ 54
3.3.1.2 ชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจน
3.3.1.2.1 ปริมาณของแหล่งไนโตรเจน ____ 57
3.3.1.2.2 ชนิดของแหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจน ____ 61
3.3.1.3 ชนิดและปริมาณแร่ธาตุเสริม ____ 65
3.3.1.4 ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ____ 75
3.3.1.5 อุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อ ____ 77
3.4 การตรวจสอบกิจกรรมทางชีวภาพของน้ำหมักเชื้อรา G.fujikuroi C ____ 79
4 อภิปรายผลการวิจัยและสรุป ____ 81
เอกสารอ้างอิง ____ 88
ภาคผนวกที่
1 สูตรอาหารที่ใช้ในการวิจัย
1.1 สูตรอาหารแข็งสำหรับเก็บรักษาเชื้อ ____ 93
1.2 สูตรอาหารแข็งสำหรับสร้างสปอร์
1.2.1 โพเตโตเด็กซ์โตรสอการ์ ____ 93
1.2.2 โพเตโตเด็กซ์โตรสอการ์เสริมด้วยแร่ธาตุเสริม ____ 93
1.3 สูตรอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ____ 93
1.4 สูตรอาหารเหลวเพื่อเปรียบเทียบสายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน ____ 94
1.5 สูตรอาหารเหลวสำหรับศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G.fujikuroi C

ภาคผนวกที่ หน้า

1.5.1 สูตรอาหารเหลวสำหรับหาสารแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม ____ 95

1.5.2 สูตรอาหารเหลวสำหรับหาสารแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม ____ 96

1.5.3 สูตรอาหารเหลวสำหรับหาแร่ธาตุเสริมที่เหมาะสม ____ 96

1.5.4 สูตรอาหารเหลวสำหรับหาความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของสูตรอาหารที่เหมาะสม ____ 96

1.5.5 สูตรอาหารเหลวสำหรับหาอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ____ 97

2 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

2.1 การเตรียมสารละลายของแหล่งไนโตรเจนโดยการย่อยด้วยกรดกำมะถัน ____ 97

2.2 การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิกไซลิก (dinitrosalicyclic acid:DNSA reagent) 98

2.3 การเตรียมสารละลายอาหารพืช (Hoagland's solution-half strength) ____ 98

3 วิธีการสกัดสารตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์โดยเครื่อง LC-3A

3.1 ปรับปรุงจากวิธีของ J.P.Pat 58,152,499 ____ 98

3.2 ปรับปรุงจากวิธีของ E.G.Jeffreys และ C.T.Calam et al. ____ 99

4 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณจิบเบอเรลลินโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography ____ 100

4.1 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ GA_3 ____ 101

4.2 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ GA_4 ____ 102

4.3 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ GA_7 ____ 103

ประวัติผู้เขียน ____ 104

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้างของเตตรา-คาร์บอกไซ ลิก จิบบาน	1
2	สูตรโครงสร้าง GA_3 GA_4 และ GA_7	2
3	การวางจานเพาะเลี้ยงในกล่องที่มีความชื้นอิ่มตัว	19
4	การบ่มเลี้ยงกล่องเพาะในตู้ควบคุมอุณหภูมิ	19
5	ความสัมพันธ์ของจิบเบอเรลลินชนิดต่างๆ กับการเจริญของต้นข้าวแคระ โดยใช้สารมาตรฐาน GA_3 GA_4 GA_7 และสารผสมของ $GA_4 + GA_7$ ความเข้มข้น 0.01-10.0 ppm	24
6	ลักษณะการเจริญของต้นข้าวเปรียบเทียบกับปริมาณ GA_3 ที่ต้นข้าวได้รับ	25
7	ลักษณะโครมาโตแกรมของการตรวจสอบชนิดและปริมาณจิบเบอเรลลินโดยวิธีทางทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี และใช้ระบบตัวทำละลายต่างๆ	28
8	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของจุดสารมาตรฐาน GA_3 GA_4 และ GA_7 กับปริมาณสารมาตรฐาน	30
9	ลักษณะโครมาโตแกรมของการใช้ 5 แอลฟา-โคเลสเทน (5α-cholestane) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบภายใน (internal standard) สำหรับการตรวจสอบชนิดและปริมาณจิบเบอเรลลินด้วย HPLC	35
10	ลักษณะโครมาโตแกรมของการใช้เมทธิลพาราเบน (methylparaben) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบภายใน (internal standard) สำหรับการตรวจสอบชนิดและปริมาณจิบเบอเรลลินด้วย HPLC	36
11	ลักษณะโครมาโตแกรมของการใช้โปรพิลพาราเบน (propylparaben) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบภายใน (internal standard) สำหรับการตรวจสอบชนิดและปริมาณจิบเบอเรลลินด้วย HPLC	39

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ชนิดของเมล็ดพืชที่มีการศึกษาและวิจัยเพื่อนำมาใช้สกัดจิบเบอเรลลิน _____ 3

2 รายงานการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตจิบเบอเรลลินโดยการหมักจุลินทรีย์ในอาหารเหลว _____ 4

3 การใช้ประโยชน์ของจิบเบอเรลลินกับผลผลิตทางการเกษตรในประเทศไทย _____ 7

4 ข้อมูลแนะนำการใช้ประโยชน์ของจิบเบอเรลลินกับผลผลิตทางการเกษตร _____ 9

5 ข้อมูลการนำเข้า GA_3 บริสุทธิ์จากต่างประเทศ _____ 12

6 ผลการเปรียบเทียบการใช้ระบบตัวทำละลาย (solvent system) ชนิดและอัตราส่วนต่างๆ ต่อการตรวจสอบชนิดและปริมาณจิบเบอเรลลินโดยวิธีทางทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี _____ 27

7 ผลการเปรียบเทียบวิธีการสกัดที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบชนิดและปริมาณจิบเบอเรลลินโดยวิธีทางไฮเพอฟอรมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (HPLC) _____ 32

8 ผลการศึกษาการสร้างสปอร์ของเชื้อรา G.fujikuroi 6 สายพันธุ์ ในอาหารแข็งสำหรับการสร้างสปอร์ 2 สูตร _____ 44

9 การเจริญของเชื้อรา G.fujikuroi 6 สายพันธุ์ ในอาหารเหลวสำหรับการเตรียมหัวเชื้อ 2 สูตร _____ 46

10 การผลิตจิบเบอเรลลินของเชื้อรา G.fujikuroi 6 สายพันธุ์ ในอาหารเหลวต่างกัน 7 สูตรและตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วย TLC _____ 48

11 ปริมาณจิบเบอเรลลินที่ผลิตโดยเชื้อรา G.fujikuroi 6 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 1.4.4 _____ 50

12 ปริมาณจิบเบอเรลลินที่ผลิตโดยเชื้อรา G.fujikuroi 6 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 1.4.6 _____ 51

ตารางที่ หน้า

13 ผลการผันแปรปริมาณกลูโคสต่อการเจริญและผลิตจิบเบอเรลลิน โดยเชื้อรา G. fujikuroi C ____ 53

14 ผลการผันแปรชนิดของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน โดยเชื้อรา G. fujikuroi C ____ 55

15 เปรียบเทียบผลการใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ร่วมกับ แอมโมเนียมไนเตรต 1.2 กรัมต่อลิตร ต่อการ ผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G. fujikuroi C ____ 58

16 ผลการผันแปรปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่อการเจริญและ ผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G. fujikuroi C ____ 60

17 เปรียบเทียบผลการใช้อินทรีย์ไนโตรเจนและอนินทรีย์ไนโตรเจน ที่มีต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G. fujikuroi C _ 62

18 ผลการผันแปรชนิดของอนินทรีย์ไนโตรเจนร่วมกับอินทรีย์ไนโตรเจน ที่มีต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G. fujikuroi C _ 63

19 ผลของแร่ธาตุเสริมที่มีต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดย เชื้อรา G. fujikuroi C ____ 66

20 ผลของการใช้แร่ธาตุเสริมตามภาคผนวกที่ 1.2 โดยการ ใช้เพียงชนิดเดียวและสองชนิดร่วมกัน ที่มีต่อการผลิต จิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G. fujikuroi C ____ 68

21 ผลของความเข้มข้นของแร่ธาตุเสริม ได้แก่ Al_2O_3 $ZnCl_2$ และ $CuSO_4$ ที่มีต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดย เชื้อรา G. fujikuroi C ____ 70

22 ผลของการใช้แร่ธาตุเสริมโดยการใช้ร่วมกันสองชนิดและ สามชนิด ที่มีต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดย เชื้อรา G. fujikuroi C ____ 72

ตารางที่ หน้า

23 ผลของการใช้แร่ธาตุเสริม Al_2O_3 0.10 กรัมต่อลิตร Al_2O_3 0.10 กรัมต่อลิตรร่วมกับแร่ธาตุเสริมตามภาคผนวกที่ 1.3 และแร่ธาตุเสริมตามภาคผนวกที่ 1.2 ที่มีต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G.fujikuroi C _____ 74

24 ผลของการผันแปรพีเอชเริ่มต้นของอาหารเหลว เมื่อใช้ Al_2O_3 0.10 กรัมต่อลิตรและแร่ธาตุเสริมตามภาคผนวกที่ 1.2 ที่มีต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G.fujikuroi C _____ 76

25 ผลของการผันแปรอุณหภูมิในการบ่มเลี้ยงเชื้อ เมื่อใช้อาหารเหลวที่เสริมด้วย Al_2O_3 0.10 กรัมต่อลิตรและแร่ธาตุเสริมตามภาคผนวกที่ 1.2 ที่มีต่อการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อรา G.fujikuroi C _____ 78

26 ผลการตรวจยืนยันกิจกรรมทางชีวภาพ (biological activity) ของสารตัวอย่างจากน้ำหมักเชื้อรา G.fujikuroi C _____ 80

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

°ซ	=	องศาเซลเซียส
ซม.	=	เซนติเมตร
มก.	=	มิลลิกรัม
มม.	=	มิลลิเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
%	=	เปอร์เซนต์
GA_s	=	จิบเบอเรลลิน เอ-เอส (เอส หมายถึง หมายเลข) เช่น GA_3 = จิบเบอเรลลิน เอ-สาม
GC	=	กาซโครมาโตกราฟี
HPLC	=	ไฮเพอฟอรมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี
LD_{50}	=	ปริมาณสารที่ทำให้สัตว์ทดลองน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตายเป็นจำนวน 50 เปอร์เซนต์ของจำนวนเริ่มต้น
TLC	=	ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี
pH	=	ความเป็นกรดด่าง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย